# 恩诺沙星分子印迹电化学传感器的制备及其在食品快速检测中的应用

**秦思楠，唐录华，高文惠***

（河北科技大学生物科学与工程学院，河北省发酵工程研究中心，河北石家庄 050000）

**摘要** 以恩诺沙星（ENRO）为模板分子，邻苯二胺（OPD）和邻氨基苯酚（OAP）为复合功能单体，在 NaAc-HAc 缓冲液中，采用电聚合法在玻碳电极表面制备了能够特异识别模板分子及其结构类似物的分子印迹电化学传感器。试验选用含 1mol/L 氯化钾及 1mmol/L 铁氰化钾的混合液作为表征溶液，采用循环伏安法和方波伏安法研究了传感器的电化学响应特性，并优化制备和检测条件。结果表明，在最佳条件下，恩诺沙星在 $2\times10^{-6}$mol/L～$4\times10^{-5}$mol/L 浓度范围内线性关系良好，检出限为 $7.0\times10^{-7}$mol/L，该传感器具有良好的稳定性和重现性，对恩诺沙星以及结构类似物具有良好的选择性。采用该传感器对实际样品牛奶、鸡肉、猪肉和鸡蛋中的恩诺沙星进行检测，加标回收率在 83.2%～92.7%之间，相对标准偏差（RSD）在 1.0%～4.8%之间(n=5)，该传感器选择性强、稳定性好、操作简便、检测快速灵敏、成本低、具有良好的应用前景。

**关键词** 恩诺沙星；食品；分子印迹聚合物；电化学传感器；快速检测

# Preparation of Enrofloxacin Molecular Imprinting Electrochemical Sensor and Its Application to Rapid Detection of Foods

**QIN Si-nan, TANG Lu-hua, GAO Wen-hui***

(College of Biological Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology; Research Center for Fermentation Engineering of Hebei, Shijiazhuang 050000, China)

**Abstract** A novel molecular imprinted electrochemical sensor was prepared by electro-polymerization on the surface of a glassy carbon electrode in NaAc-HAc buffer solution, and enrofloxacin was used as template molecular, o-phenylenediamine (OPD) and o-aminophenol (OAP) as composite functional monomer. The sensor could specifically recognize the template molecules and its analogues. In the experiment, 1 mol/L KCl and 5 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]$ was used as characterization solution, the electrochemical sensor response characteristics were researched, and the preparation and detection conditions of the sensor were optimized by square wave voltammetry (SWV) and cyclic voltammetry (CV). The results showed that under the optimal conditions, the linear relationship between SWV peak current difference and the concentrations of enrofloxacin was found in the range of $2\times10^{-6}$ mol/L~$4\times10^{-5}$ mol/L

基金项目：河北省科技计划项目（16275503D），石家庄市科学技术研究与发展计划项目（No.181490372A）

作者简介：秦思楠（1995—），女，在读研究生，研究方向为食品安全与检测。E-mail：2314703866@qq.com

*通信作者：高文惠（1963—），女，教授，博士，研究方向为食品安全与质量控制技术。E-mail：wenhuigao@126.com

with the linear correlation coefficient ($R^2$) of 0.9990, the detection limit was $7.0\times10^{-7}$mol/L, and the sensor had good stability, repeatability and good selectivity to enrofloxacin and its analogues. Enrofloxacin in real samples, such as milk, egg, chicken and pork, was detected by the developed sensor, the average recoveries were between 83.2% and 92.7%, and the relative standard deviations (RSDs) were 1.0%～4.8% (n=5). This sensor is simple, sensitive, low cost, and has good selectivity and stability, which provide it a good application prospect.

**Key Words** enrofloxacin; food; molecular imprinting polymer; electrochemical sensor; rapid detection



## 前言

近年来抗生素的滥用及残留问题引起了人们的广泛关注，抗生素的滥用不仅会使病原菌对该类药物的耐药性产生影响，还会造成畜禽的中毒、人类的过敏反应等[1]。我国对抗生素的使用也采取了严格的监管制度。恩诺沙星是化学合成的第三代氟喹诺酮类抗生素（其分子结构如图 1 所示），该类药物通过选择性抑制细菌的 DNA 旋转酶以及拓扑异构酶 IV 来达到抗菌的作用[2]，它属于广谱抗菌药，抗菌效果十分显著，在畜禽以及水产品的疾病防治中得到了广泛的使用[3]。目前恩诺沙星是国家的指定专用兽药，现已作为国家指定的抽检项目。因此，建立一种简便、快速、灵敏、准确的检测食品中恩诺沙星的方法有着重要意义。

图 1 恩诺沙星的分子结构

Fig. 1 Enrofloxacin molecular structure

目前，样品中恩诺沙星的常用检测方法是气相色谱法[4]、液相色谱法[5-7]和色谱-质谱联用技术[8,9]，但使用上述色谱法检测不仅运行成本高，而且样品前处理复杂，分析时间长。而分子印迹电化学传感器是将分子印迹聚合物对目标物质特异性识别的特点与电化学快速、灵敏检测的优势结合于一体，设备简单、价格低廉、操作方便、检测快速、选择性强、稳定性好。本试验以恩诺沙星为模板分子，制备恩诺沙星分子印迹电化学传感器，并将其应用到食品样品的快速检测中。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

CHI600E 型电化学工作站（上海辰华仪器有限公司）；三电极系统：玻碳电极为工作电极，Ag/AgCl 为参比电极，铂丝电极为对电极（上海辰华仪器有限公司）。

恩诺沙星（ENRO，纯度 98%），邻苯二胺（OPD，纯度 99.5%），邻氨基苯酚（OAP，纯度 98%），间苯二酚（纯度 99%），阿拉丁试剂有限公司；α-甲基丙烯酸（纯度 99%），（天津博迪化工股份有

限公司）；铁氰化钾，氯化钾，乙腈（分析纯，天津市永大化学试剂有限公司）；磷酸氢二钠、硫酸、氢氧化钠、硝酸、磷酸、乙酸、无水乙酸钠、无水乙醇均为分析纯。

样品：猪肉、鸡肉、鸡蛋、牛奶，均为市售

### 1.2 玻碳电极的预处理

将玻碳电极（GCE）依次用不同粒度（0.5μm~0.05μm）的 $Al_2O_3$ 粉在麂皮表面研磨抛光成镜面，用超纯水冲洗干净后再依次在 0.5%硝酸、无水乙醇、超纯水中超声清洗（每次 5s~6s）；氮气吹干，再将电极置于 0.5mol/L $H_2SO_4$ 溶液中，采用电化学方法对电极进行处理，使电极达到最佳状态，取出电极，再次用超纯水冲洗后氮气吹干；然后将其置于表征溶液中采用循环伏安法进行循环扫描，直至得到对称且可逆的氧化还原峰（峰电位差在 85 mV 以下，峰电流比为 1:1），最后取出电极待用[10]。

### 1.3 样品处理

取捣碎和混匀的样品（猪肉、鸡肉、牛奶或鸡蛋）5 g 置于 50 mL 离心管中，加入乙腈 10 mL，振荡混匀 2 min，超声提取 10min，10000 r/min 离心 5 min，取上清液，残渣再次加入 10 mL 乙腈，按上述方法处理，合并两次上清液后用乙腈定容至 25 mL，待测[11]。

### 1.4 试验方法

试验过程中，在室温下选择循环伏安法（CV）和方波伏安法（SWV）优化试验条件并表征电化学传感器性能，同时采用 SWV 对实际样品进行检测。将三电极系统置于含电活性探针的 $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液中测量电极的电流响应。设定测量参数如下：CV，扫描电位和扫描速率分别为-0.2V~0.8V 和 50 mV/s；SWV，起止电位为-0.1V~0.6V、电位增量 0.005V、脉冲幅度 0.025V、频率 5 Hz。每次测量后，在洗脱剂中浸泡玻碳电极，洗脱除去模板分子后用超纯水冲洗电极，氮气吹干，再进行下一次测量。

### 1.5 数据处理与分析

采用 Origin 8.0 和 Excel 2016 对实验数据进行作图及统计分析，每组试验重复测量 3 次，数据均为 3 次平行试验平均值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 恩诺沙星分子电化学活性研究

为了验证恩诺沙星分子自身的电活性对传感器的制备过程是否存在影响，试验采用 CV 对恩诺沙星分子的电化学活性进行了研究。如图 2 所示，恩诺沙星在循环扫描的过程中出现不可逆的氧化峰，采用直接的电化学分析法测定恩诺沙星时不仅灵敏度低而且会有氧化产物生成并吸附在工作电极表面，对电极使用产生影响。

本试验结合电化学分析方法，采用分子印迹技术制备恩诺沙星分子印迹电化学传感器，借助电活性探针间接检测食品中的恩诺沙星残留。

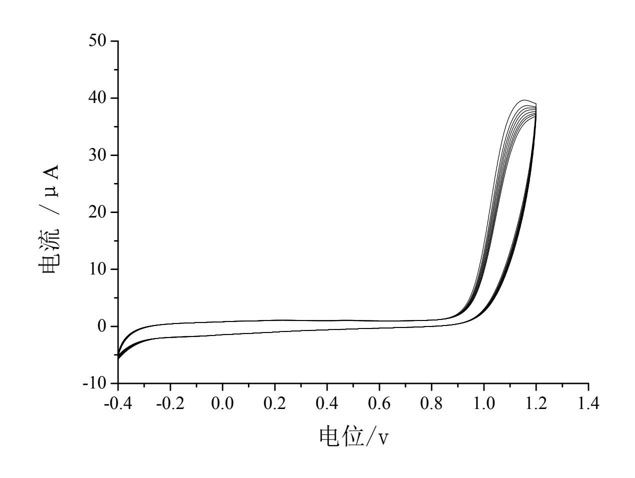


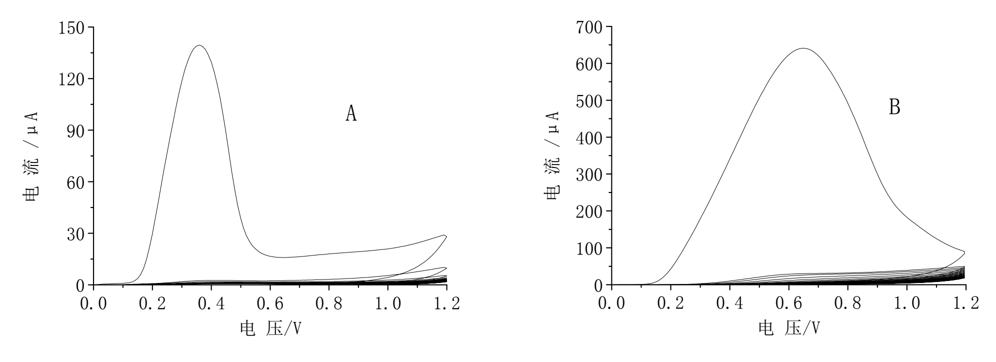

图 2 恩诺沙星在醋酸钠缓冲液（pH=5.2）中的 CV 图

Fig. 2 CV curves of enrofloxacin in sodium acetate buffer (pH = 5.2)

## 2.2 功能单体的选择

选择功能单体的基本原则是根据模板分子的结构及其与功能单体的相互作用类型，其中功能单体与模板分子间作用力以氢键最为常见[11,12]，试验依据此原则初步考察了含羟基和氨基的邻苯二胺、邻氨基苯酚、间苯二酚、α-甲基丙烯酸等有可能作为功能单体的化合物，并依据其物理化学性质进一步研究聚合特性以确定最合适的化合物作为功能单体。

在试验过程中发现，当α-甲基丙烯酸作为功能单体时，聚合过程中并没有氧化还原峰出现，即α-甲基丙烯酸与模板分子在电聚合时没有发生电化学反应，因此不适合做功能单体；而将邻苯二胺、邻氨基苯酚、间苯二酚这三种化合物两两组合进行电聚合时发现，OPD/OAP 的聚合效果最佳，如图 3-A 所示，OPD/OAP 可在电极表面聚合形成不导电的聚合物膜，经过表征后该膜的绝缘性良好，电流响应几乎为零，因此试验选择 OPD/OAP 作为最佳复合功能单体。而且使用复合功能单体的重要原因之一是复合功能单体比单一的功能单体能够提供更多的活性结合位点，与模板分子间的特异结合作用更强。




A-无模板分子 ENRO，B-有模板分子 ENRO

图 3 15mmol/L OPD/OAP 在醋酸钠缓冲液（pH=5.2）中的电聚合曲线

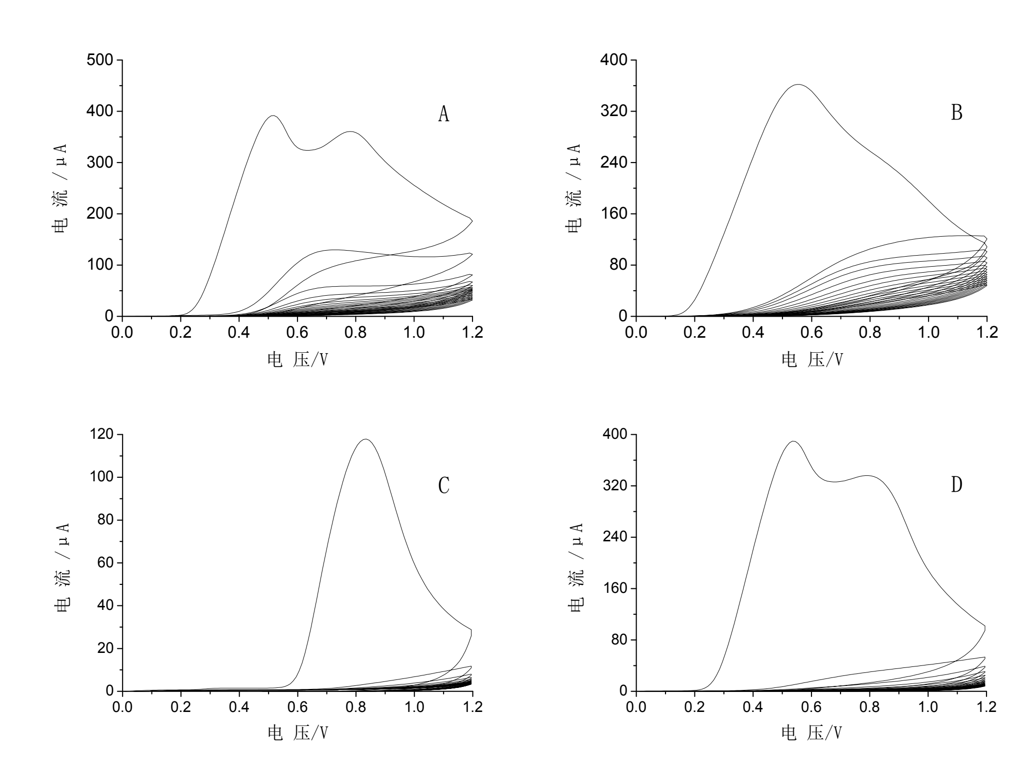
Fig. 3 Electropolymerization curves of 15 mmol/L OPD/OAP in sodium acetate buffer (pH=5.2)

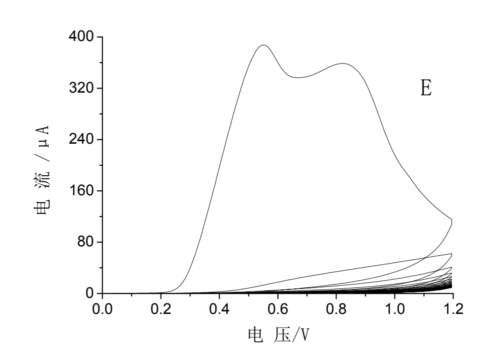
将含 OPD/OAP 聚合膜的电极置于经除氧处理的 0.5mol/L $H_2SO_4$-甲醇（体积比为 1:1）中浸泡 12 min 后，用超纯水冲洗，氮气吹干，对电极再次进行表征。结果发现没有氧化还原峰出现，且电流强度几乎为零，表明 OPD/OAP 聚合膜在该酸性环境下稳定。因此，本试验也说明应选择 OPD/OAP 为电聚合的最佳复合功能单体。

比较图 3-A 和图 3-B 还可以看出，在相同条件下，没有模板分子存在时 OPD/OAP 聚合的 CV 曲线与模板分子存在时的曲线相比，除最高峰电位负移外基本是相同的，这可能是因为模板分子在扫描的电位范围内没有电活性，所以在电聚合过程中没有发生电化学反应，即恩诺沙星与 OPD/OAP 通过氢键结合形成聚合膜后，分子结构没有被破坏，这保证了玻碳电极上印迹膜中的模板分子能被洗脱，而且洗脱后的印迹空穴结构是完整的。

### 2.3 聚 OPD/OAP 复合印迹膜的形成

通过比较不同功能单体在醋酸钠电解液中的聚合情况，研究聚 OPD/OAP 复合膜的形成特点。如图 4 所示，功能单体在电聚合时的循环伏安曲线，由电聚合 OPD（图 4-A）和 OAP（图 4-B）的循环伏安曲线可以看出，OPD 和 OAP 分别在 0.5 V 和 0.55 V 附近出现一个氧化峰，并随着聚合圈数的增加，循环伏安曲线下降很快，表明该过程是不可逆的，同时在工作电极表面形成不导电的聚合物薄膜；而图 3-B 是 OPD 和 OAP 组成复合功能单体的电聚合曲线，由图可以看出，OPD 和 OAP 的峰电位发生了正移，为完全不可逆反应，且峰电流明显增大，表明复合功能单体在聚合过程中发生了相互作用，在电极表面快速生成了一层致密的、不导电的复合聚合物膜，与单一的功能单体聚合相比，复合功能单体的电聚合成膜速度更快，绝缘能力更强。






A-OPD，B-OAP，C-RC，D-OPD/RC，F-OAP/RC

图 4 功能单体在醋酸钠缓冲液中（pH=5.2）的电聚合曲线

Fig. 4 Electropolymerization curves of functional monomers in sodium acetate buffer (pH = 5.2)

## 2.4 聚合条件的优化

### 2.4.1 模板分子与功能单体比例的确定

电聚合法制备分子印迹电化学传感器较为重要的一个条件就是确定模板分子与功能单体的用量。大量研究表明，在聚合过程中若功能单体用量过高，则会导致成膜速度太快，功能单体分子在电极表面占据较多面积，减少了印迹位点数量，稳定性下降；若功能单体用量过少，则会导致成膜时间过慢，相应印迹位点数量也会减少，影响印迹效应。试验首先固定功能单体浓度为 10 mmol/L，分别选取 0.1、0.2、1、2、4 mmol/L 5 种不同浓度的模板分子进行电聚合制备分子印迹膜。试验结果表明，当模板分子浓度为 2 mmol/L 时，印迹效果最佳。同时由于复合功能单体中 OPD 和 OAP 分子量相当，所以选择了等浓度的 OPD/OAP 进行电聚合[13]，试验考察了模板分子与复合功能单体（M:OPD:OAP）的浓度比分别为 2:5:5、2:10:10、2:15:15、2:20:20、2:25:25 时对印迹效果的影响，结果如图 5 所示，当 M:OPD:OAP=2:15:15 时，印迹效果好且洗脱时响应电流值最大，因此试验固定模板分子与功能单体的比例为 2:15:15。

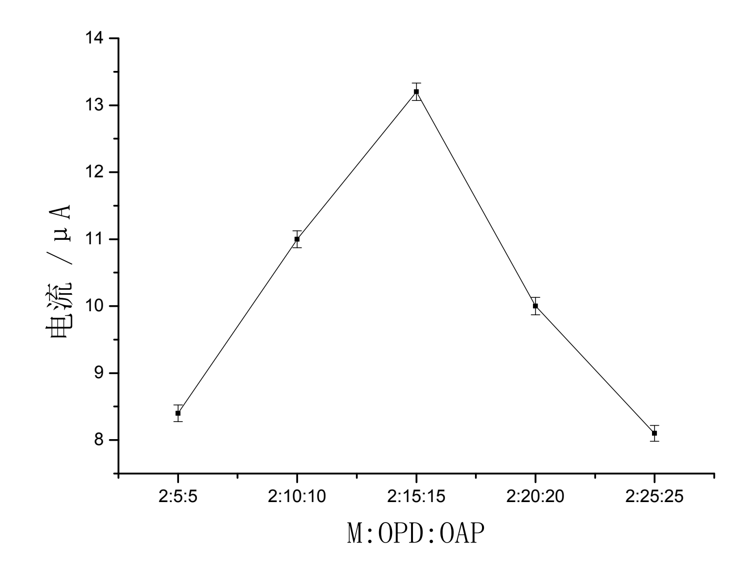
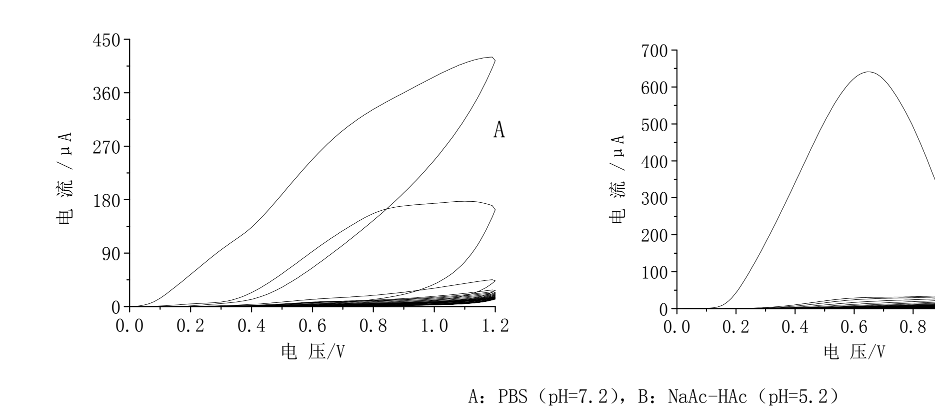



图 5 聚合比例优化曲线

Fig. 5 The optimization curve of polymerization ratio

### 2.4.2 聚合电解质的选择

试验分别研究了在 pH 为 5.2 的 NaAc-HAc 电解质溶和 pH 为 7.2 的 $Na_2HPO_4$-$NaH_2PO_4$（磷酸缓冲盐溶液，PBS）电解质溶液中的聚合情况。结果表明在 NaAc-HAc 电解质溶液和 PBS 电解质溶液中均能形成不导电的 OPD/OAP 聚合膜。由图 6 可以看出，在 pH 为 5.2 的 NaAc-HAc 电解质溶液中成膜速度快，膜稳定性较强，绝缘性更好，且成膜峰电流更大，因此本试验选择 pH 为 5.2 的 NaAc-HAc 溶液为电解质溶液。



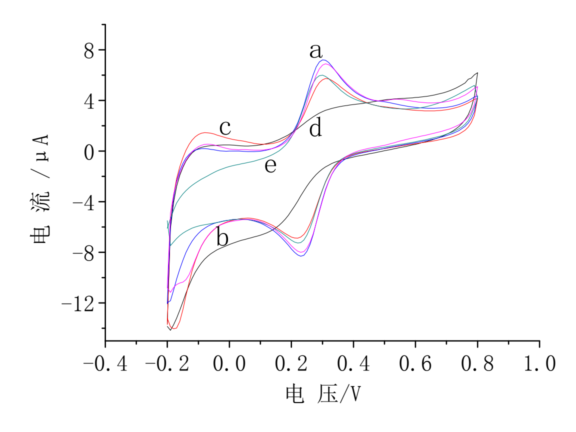

A：PBS（pH=7.2），B：NaAc-HAc（pH=5.2）

图 6 相同浓度与比例模板分子与功能单体在 PBS 电解质（pH=7.2）与 NaAc-HAc 电解质（pH=5.2）中聚合情况比较

Fig.6 Comparison of the polymerization of template molecule and functional monomer at the same concentration and ratio in PBS electrolyte (pH = 7.2) and NaAc-HAc electrolyte (pH = 5.2)

### 2.4.3 聚合电位的选择

试验考察了 0V~0.8V、0V~1.0V、-0.2V~0.8V、-0.2V~1.0V、0V~1.2V 5 种不同的聚合电位对聚合效果的影响。由图 7 可以看出，当聚合电位为 0V~0.8V 和 0V~1.0V 时，洗脱后印迹膜有脱落现象；-0.2V~0.8V 时峰电位正移且氧化还原峰电流降低；当电位在-0.2V~1.0V 范围内模板分子洗脱困难；0V~1.2V 时模板分子洗脱效果良好且印迹膜良好，因此最佳聚合电位是 0V~1.2V。




a：0V～0.8V，b：0V～1.0V，c：-0.2V～0.8V，d：-0.2V～1.0V，e：0V～1.2V

图 7 聚合电位对模板分子洗脱效果的影响

Fig. 7 Effect of the polymerization potential on the elution effect of template molecules

### 2.4.4 聚合圈数的选择

在制备分子印迹聚合膜的过程中，聚合圈数对聚合膜厚度、印迹效果和灵敏度有很大影响；若聚合圈数太少则聚合膜太薄，形成的印迹分子空穴少，印迹效果不佳，影响传感器的灵敏度；而聚合圈数过多则形成的膜太厚，膜内的模板分子不易被洗脱，不能形成到达电极表面的通道，从而影响测定效果。为此，在其他条件相同的情况下，采用 CV 聚合不同圈数，制备聚合膜厚度不同的印迹电极；试验中分别考察了 5、10、15、20、25、30 圈在电极上进行电聚合，将聚合好的电极浸泡在洗脱剂中洗脱去除模板分子恩诺沙星后，采用 SWV 进行表征；由图 8 可以看出，当聚合圈数为 15 圈时，洗脱模板分子后电流响应值最大。因此，试验确定最佳聚合圈数为 15 圈。

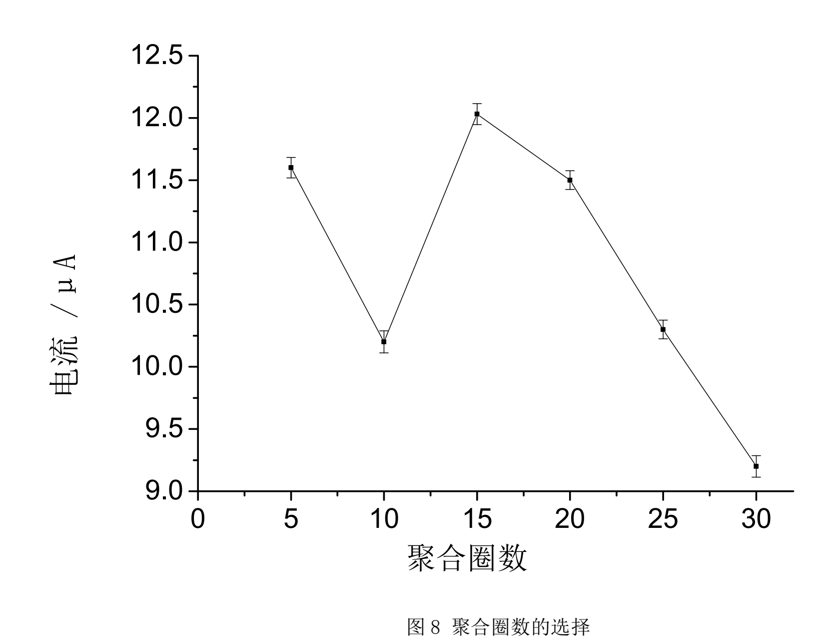



图 8 聚合圈数的选择

Fig. 8 The selection of polymerization cycle number



## 2.5 洗脱剂与洗脱时间的选择

试验分别考察了 0.1mol/L $H_2SO_4$-50%甲醇（1:1，*V:V*）、0.5mol/L $H_2SO_4$-50%甲醇（1:1，*V:V*）、0.1mol/L NaOH 的乙醇-水（3:1，*V:V*）、乙醇-水（3:1，*V:V*）溶液作为洗脱剂时，对印迹聚合膜洗脱效果的影响。结果发现，0.1mol/L $H_2SO_4$-50%甲醇（1:1，*V:V*）、0.5mol/L $H_2SO_4$-50%甲醇（1:1，*V:V*）以及乙醇-水（3:1，*V:V*）溶液洗脱模板分子困难或洗脱效果不佳，而 0.1mol/L NaOH 的乙醇-水（3:1，*V:V*）洗脱效果良好。

随后，试验对洗脱时间进行了考察，为了完全去除印迹聚合膜中的模板分子，将印迹电极置于洗脱剂中浸泡，每隔 2 min 取出后采用 SWV 法进行表征，当响应峰电流值达到最大且保持不变时，说明模板分子已经完全去除，结果如图 9 所示，随着模板分子不断被洗脱，响应峰电流不断增大，12 min 时峰电流达到 12μA，而继续洗脱峰电流不再增加，表明模板分子已经洗脱完全，试验最终确定最佳洗脱时间为 12 min。

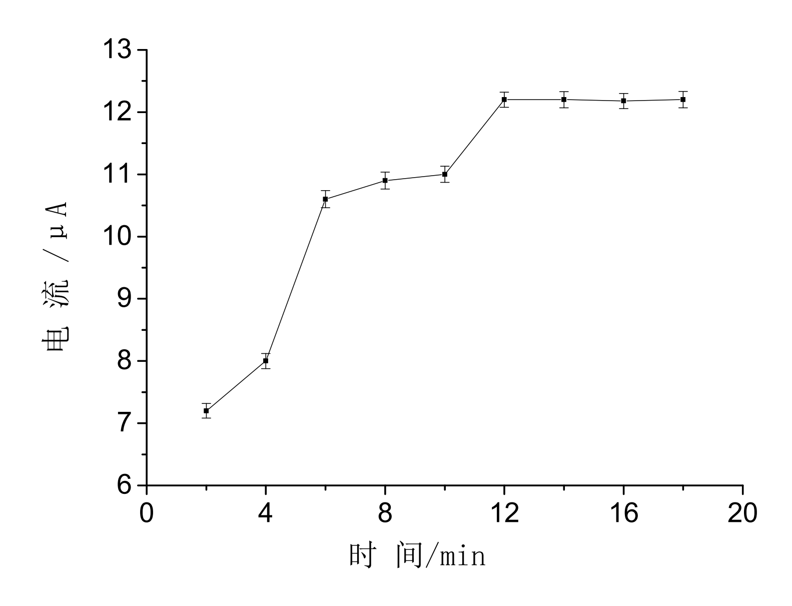



图 9 模板分子洗脱时间的优化

Fig. 9 Optimization of template molecule elution time

## 2.6 吸附时间的优化

将上述最佳条件下制备的印迹传感器置于 0.01mmol/L 恩诺沙星标准溶液中吸附不同的时间，然后于探针溶液中对传感器进行表征以确定最佳吸附时间。由图 10 可以看出，随着吸附时间不断增加，响应峰电流逐渐降低，当吸附 6 min 后，响应电流基本保持不变，说明此时恩诺沙星已经镶嵌在传感器洗脱后的印迹空穴中，因此试验选择吸附时间为 6 min。

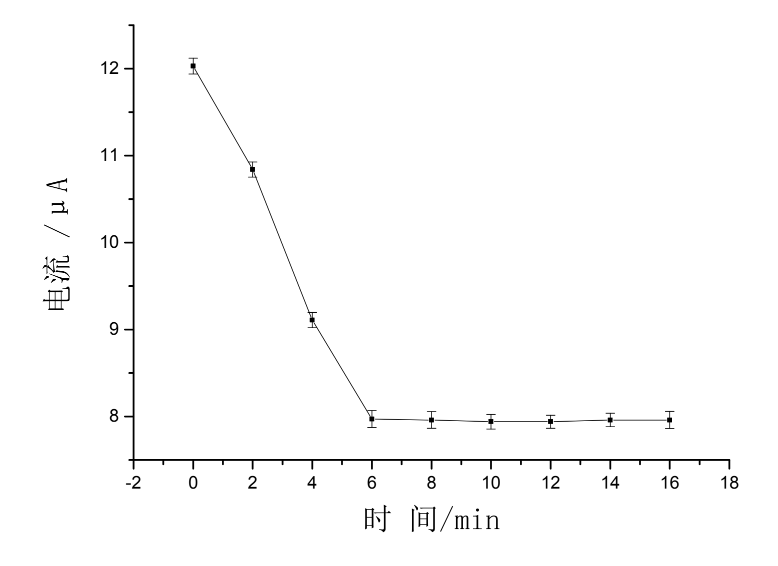



图 10 模板分子吸附时间的优化

Fig. 10 Optimization of template molecule adsorption time

## 2.7 分子印迹效应

试验采用 CV 和 SWV 验证分子印迹电极的印迹效应，结果如图 11 和图 12 所示。由图 12 中 SWV 的表征曲线可知，裸电极（a 曲线）的响应峰电流值最大，表明此时探针离子在玻碳电极表面几乎没有阻碍地进行电子转移；当电聚合后，印迹膜电极在未洗脱模板分子（曲线 d）时，电极表面几乎没有电流响应，这说明在电极表面的聚合物膜不导电，并阻碍了探针离子在电极表面进行电子传递，抑制了氧化还原反应的发生；在印迹膜电极洗脱模板分子后（曲线 b），响应峰电流较洗脱前有明显提高，这是由于印迹膜上模板分子被洗脱后，探针离子通过印迹空穴与电极表面接触，发生了氧化还原反应，从而进行电子传递；当印迹膜电极上模板分子被洗脱后再吸附（曲线 c）时，与模板分子洗脱后（曲线 b）比较响应峰电流值下降，表明再吸附模板分子后，印迹膜上有一部分空穴重新被模板分子占据，探针离子通过膜的数量减少，响应电流强度也随之减小。CV 和 SWV 表征效果一致。

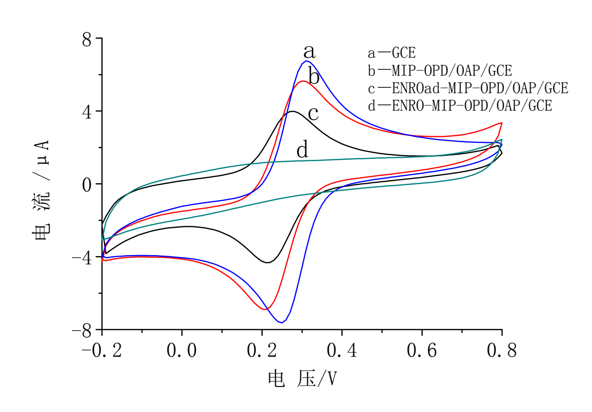



图 11 不同电极在表征溶液中的 CV 曲线

Fig. 11 CV curves of the different electrodes in characterizing solution

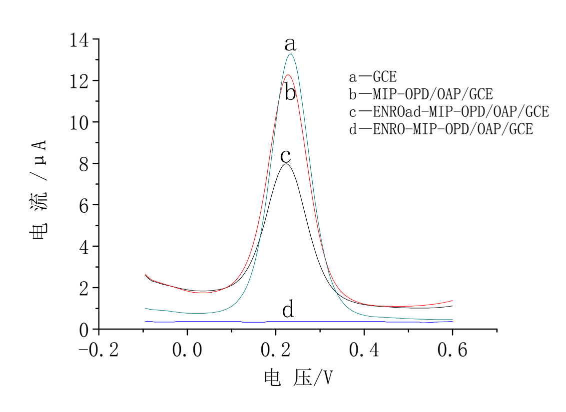



图 12 不同电极在表征溶液中的 SWV 曲线

Fig. 12 SWV curves of the different electrodes in characterization solution

## 2.8 分子印迹聚合物膜的选择性研究

试验考察了与恩诺沙星结构类似的环丙沙星、达氟沙星、诺氟沙星（结构式如图 13a、b、c 所

示）以及与恩诺沙星结构相差较大的四环素（结构式如图 13d 所示）作为干扰物质对印迹膜电极进行选择性研究，结果如图 14 所示。由图 14 可以看出，该传感器对模板分子恩诺沙星的响应电流值最大，其次是其结构类似物环丙沙星、达氟沙星、诺氟沙星，而对四环素电流响应很弱。这是由于环丙沙星、达氟沙星以及诺氟沙星在分子结构以及分子量上与恩诺沙星较为相似，因此可以进入到印迹空穴中与功能单体结合，说明该传感器能够对恩诺沙星及其结构类似物进行测定；而四环素与模板分子的结构差异较大，所以传感器对其选择性很差，即四环素分子不能进入到印迹空穴中而不能对恩诺沙星的测定形成干扰。结果表明，该传感器选择性良好。

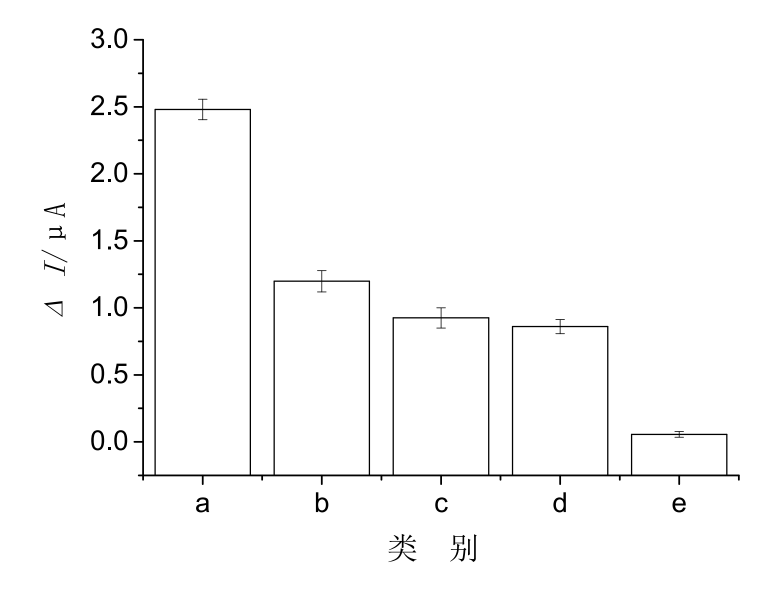
a　　　　　　　　　　b

c　　　　　　　　　　d

a：环丙沙星，b：达氟沙星，c：诺氟沙星，d：四环素

图 13 结构类似物和干扰物质的分子结构

Fig. 13 Structural analogues and interfering substances molecular structure




a：恩诺沙星，b：环丙沙星，c：达氟沙星，d：诺氟沙星，e：四环素

图 14 分子印迹聚合膜电极的选择性

Fig. 14 Selectivity of molecularly imprinted polymeric membrane electrode

## 2.9 线性关系与检出限

试验配制了不同浓度的恩诺沙星标准溶液（0.002mmol/L~0.04mmol/L），采用 SWV 在探针离子中对分子印迹聚合膜电极在空白溶液与配制好的不同浓度恩诺沙星标准溶液吸附后的响应值进行测定，以*ΔI* 为纵坐标，以恩诺沙星标准溶液浓度为横坐标，作图得到标准曲线以及线性范围。以 S/N=3 确定模板分子的的检出限，结果如图 15 和图 16 所示。结果表明，恩诺沙星在 $2\times10^{-6}$mol/L~$4\times10^{-5}$mol/L 范围内与*ΔI* 呈良好的线性关系，其线性方程为*ΔI*=49.566x+0.1869，线性相关系数为 $R^2$=0.9990，检出限为 $7.0\times10^{-7}$mol/L。

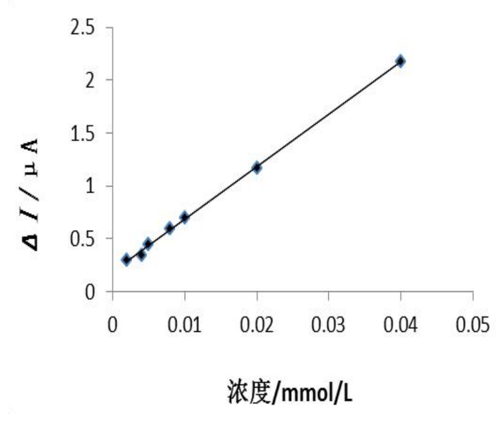



图 15 峰电流差 *ΔI* 与标准溶液浓度的关系曲线

Fig. 15 Relationship curve between peak current difference *ΔI* and standard solution concentration

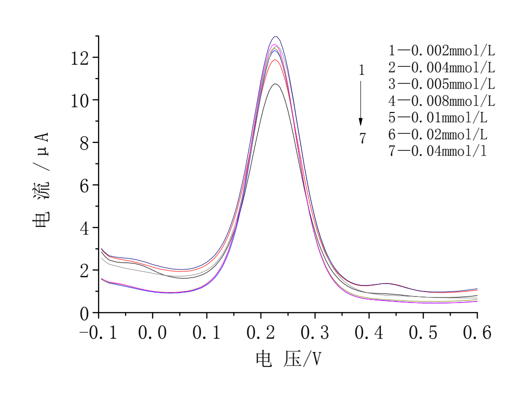



图 16 不同浓度的恩诺沙星标准溶液 SWV 曲线

Fig. 16 SWV curves of the different concentration enrofloxacin standard solution

## 2.10 回收率与精密度

在最优试验条件下，食品样品在 $2\times10^{-6}$mol/L 和 $2\times10^{-5}$mol/L 2 个添加水平下进行加标回收率试验，分析结果如表 1 所示，样品加标平均回收率在 83.2%~92.7%之间，相对标准偏差(RSD)在 1.0%~4.8%之间(n=5)。结果表明该方法的回收率和精密度良好。

表 1　样品加标回收率和精密度(n=5)

Table 1 Sample spike recovery and precision (n = 5)

| 不同添加水平 | 鸡肉 | | 猪肉 | | 纯牛奶 | | 鸡蛋 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (mol/L) | $2\times10^{-6}$ | $2\times10^{-5}$ | $2\times10^{-6}$ | $2\times10^{-5}$ | $2\times10^{-6}$ | $2\times10^{-5}$ | $2\times10^{-6}$ | $2\times10^{-5}$ |
| 测定次数 | 回收率/% | | | | | | | |
| 1 | 82.2 | 79.7 | 86.5 | 89.7 | 88.6 | 82.4 | 91.5 | 79.3 |
| 2 | 82.8 | 84.8 | 89.0 | 88.2 | 95.2 | 92.8 | 92.9 | 85.6 |
| 3 | 81.0 | 86.6 | 88.2 | 89.1 | 91.5 | 84.5 | 93.9 | 83.4 |
| 4 | 83.9 | 88.0 | 86.8 | 92.7 | 86.9 | 90.3 | 92.8 | 82.6 |
| 5 | 88.2 | 82.5 | 88.5 | 86.8 | 88.9 | 88.0 | 92.2 | 84.9 |
| 平均回收率(%) | 83.6 | 84.3 | 87.8 | 89.3 | 90.2 | 87.6 | 92.7 | 83.2 |
| 相对标准偏差 RSD(%) | 3.3 | 3.9 | 1.2 | 2.5 | 3.6 | 4.8 | 1.0 | 2.9 |

### 2.11　实际样品检测

将食品样品（鸡蛋、纯牛奶、鸡肉、猪肉）按照 1.3 方法处理后，取过膜后待测溶液 2mL 分别置于电解杯中，用 NaAc-HAc 缓冲液稀释至 10mL，待测[14]。采用 1.4 电化学测量方法对样品进行检测，检测结果为样品中未检出恩诺沙星。

### 2.12　重现性与稳定性

试验在最优条件下采用相同的方法使用恩诺沙星印迹传感器 20 次，对传感器的重现性进行了考察，得到 $\Delta I$ 的 RSD≤6.41%（n=20），表明该传感器重现性良好。以模板分子恩诺沙星为例对传感器进行稳定性研究，试验对制备的印迹电极在 4º C 下保存，7 天后传感器在最优条件下对 0.01 mmol/L 恩诺沙星标准溶液进行测定，其测量值为初始值的 92.6%，14 天后其测量值为初始值的 87.8%，21 天后其测量值为初始值的 82.0%，表明该传感器稳定性良好。

## 3　结论

本试验以恩诺沙星为模板分子，通过恩诺沙星的分子结构、物理化学性质以及与功能单体间的氢键作用力，最终选择了 OPD/OAP 作为最佳功能单体制备分子印迹电化学传感器。

其次结合电化学方法，探索恩诺沙星分子印迹电化学传感器最佳的电聚合条件：模板分子与功能单体浓度比为 2:15:15，聚合电解质 NaAc-HAc 缓冲液（pH=5.2），聚合圈数为 15 圈，聚合电位 0V~1.2V，洗脱剂为 0.1 mol/L NaOH 的乙醇-水（3:1，$V$:$V$），模板分子洗脱时间 12 min，印迹电极吸附时间 6 min。试验分别采用 CV 和 SWV 两种电化学分析方法对印迹电极的分子印迹性能进行了表征，试验结果表明，该传感器的印迹效果良好。

最后，试验选取了模板分子和其结构类似物以及与其结构差异较大的物质对该传感器进行选择性试验研究。结果表明，该传感器对模板分子恩诺沙星选择性最好，对其结构类似物均有一定的选择性，而对分子结构差异较大的四环素选择性最差；恩诺沙星浓度在 $2\times10^{-6}$mol/L~$4\times10^{-5}$mol/L 范围内与其相对峰电流呈良好的线性关系，检出限为 $7.0\times10^{-7}$mol/L，样品平均回收率为 83.2%~92.7%，相对标准偏差（RSD）在 1.0%~4.8%之间(n=5)，电极连续使用 20 次之后传感器性能良好。这充分说

明该传感器稳定性好，灵敏度高，抗干扰能力强，可用于食品样品中恩诺沙星残留量的检测。

## 参考文献

[1] Shlaes D M. Research and Development of Antibiotics: The Next Battleground. ACS Infectious Diseases, 2015, 1(6): 232-233

[2] 叶建美, 吴康, 吴洪丽,等. 恩诺沙星抗菌效果及药代动力学研究进展. 湖北农业科学, 2015, 54(23): 5813-5816

Ye J M, Wu K, Wu H L, et al. Research Progress of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Enrofloxacin. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(23): 5813-5816

[3] 吕媛.氟喹诺酮类抗菌药(fluoroquinolones)研究进展.全国抗菌药物临床药理学术会议，2006：466-467

Lv Y. Advances in research of fluoroquinolones. National Conference on Pharmacology and Pharmacology, 2006: 466-467

[4] 包晓丽.食品中喹诺酮类抗菌药的分析方法比较研究. 杭州: 浙江工商大学, 2009

Bao X L. Comparative analysis of quinolone antibacterials in food. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2009

[5] Choksi P, Shaikh F, Shah D A, et al. Development of Liquid chromatographic method for simultaneous determination of Bromhexine hydrochloride and Enrofloxacin in formulations. Indian Drugs, 2018, 55(2): 44-49

[6] Joshi H, Shah A, Patel J, et al. Development and Validation of Analytical Method for Simultaneous Estimation of Bromhexine HCl and Enrofloxacine in Combined Pharmaceutical Dosage Form. Eurasian Journal of Analytical Chemistry, 2017, 12(8): 1631-1638

[7]刘亚梅, 闵盛. 高效液相色谱法同时测定禽蛋中环丙沙星、达氟沙星和恩诺沙星的残留量. 理化检验(化学分册), 2016, 52(3): 305-307

Liu Y M, Min S. Simultaneous Determination of the Residues of Ciprofloxacin, Danofloxacin and Enrofloxacin in Eggs by HPLC. Physical Testing and Chemical Analysis Part B:Chemical Analysis, 2016, 52(3): 305-307

[8] 赵晶, 毕春娟, 陈振楼,等. 上海市崇明岛养殖场周边环境中氟喹诺酮类抗生素的含量特征. 生态与农村环境学报, 2017, 33(2): 120-126

Zhao J, Bi C J, Chen Z L, et al. Contents of Fluoroquinolone-Type Antibiotics in the Surroundings of Livestock Farms in Chongming Island of Shanghai. Journal of Ecology & Rural Environment, 2017, 2017, 33(2): 120-126

[9] Ho Y B, Zakaria M P, Latif P A, et al. Occurrence of veterinary antibiotics and progesterone in broiler manure and agricultural soil in Malaysia. Science of the Total Environment, 2014, 488-489(1): 261-267

[10] 高文惠，庞军，王姣姣,等. 联苯三唑醇分子印迹电化学传感器的制备及识别性能研究. 现代食品科技, 2015, 31(1): 89,96-100

Gao W H, PangJ, Wang J J, et al. Preparation and Recognition Properties of a Bitertanol Electrochemical Sensor Based on Molecular Imprinting Technology. Modern Food Science and technology, 2015, 31(1): 89,96-100

[11] 赵玲钰，高林，庞军,等. 胺菊酯分子印迹电化学传感器的制备及性能. 食品科学, 2017, 38(8): 283-289

Zhao L J, Gao L, Pang J, et al. Preparation and Application of Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor for the Detection of Tetramethrin and Its Performance. Food Science, 2017, 38(8): 283-289

[12] 宫倩倩.吲哚乙酸分子印迹电化学传感器的研究. 无锡：江南大学, 2012

Gong Q Q. indole acetic acid molecular imprinted electrochemical sensor research. Wuxi: Jiangnan University, 2012

[13] 汤万进，赵彤，周春红，等.复合功能单体法合成氧氟沙星分子印迹材料.兰州大学学报(自然科学版)，2014(1)：136-144

Tang W J, Zhao T, Zhou C H, et al. Preparation of a molecularly imprinted polymer of ofloxacin with combined functional monomers. Journal of Lanzhou university (natural sciences), 2014(1):136-144

[14] 高杨，王伟，刘英姿,等.盐酸金霉素分子印迹电化学传感器的研制. 分析化学, 2015, 43(2): 212-217

Gao Y, Wang W, Liu Y Z, et al. Development of Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor for Chlortetracycline Hydrochloride. Analytical Chemistry, 2015, 43(2): 212-217